



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Gabriel Vitor da Silva Pinto

**Prevalência de coinfeção e fatores associados ao
Papilomavírus Humano (HPV) e à *Chlamydia tracomatis*
em mulheres em idade reprodutiva atendidas em
Programa de Prevenção de Câncer do Colo Uterino na
região sudeste do Brasil**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre
em Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Guimarães da Silva
Coorientadora: Dra. Aline do Nascimento Bolpetti

**Botucatu
2015**

Gabriel Vitor da Silva Pinto

Prevalência de coinfecção e fatores associados ao
Papilomavírus Humano (HPV) e à *Chlamydia
tracomatis* em mulheres em idade reprodutiva
atendidas em Programa de Prevenção de Câncer
do Colo Uterino na região sudeste do Brasil

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Guimarães da Silva
Coorientadora: Dra. Aline do Nascimento Bolpetti

Botucatu
2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Pinto, Gabriel Vitor da Silva.

Prevalência de coinfecção e fatores associados ao Papilomavírus Humano (HPV) e à Chlamydia trachomatis em mulheres em idade reprodutiva atendidas em Programa de Prevenção de Câncer do Colo Uterino na região sudeste do Brasil / Gabriel Vitor da Silva Pinto.
- Botucatu, 2015

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Márcia Guimarães da Silva

Coorientador: Aline do Nascimento Bolpetti

Capes: 40601005

1. Chlamydia trachomatis. 2. Vírus do papiloma. 3. Coinfecção.
4. Doenças sexualmente transmissíveis - Prevenção. 5. Colo uterino - Câncer - Prevenção.

Palavras-chave: Chlamydia trachomatis; HPV; coinfecção.

Dedicatória

Dedico aos meus Pais, Silvana e Antônio, meu trabalho, meu empenho e minhas conquistas pelo apoio incondicional e pela confiança em todas as minhas escolhas, por não medirem esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida. Ao meu avô Tico que foi peça fundamental na formação do meu caráter e sei que onde estiver está muito orgulhoso de mim. A vocês, minha imensa gratidão e sempre amor.

Agradecimento Especial

À minha Orientadora Profª Drª Márcia Guimarães da Silva pela confiança no meu trabalho desde o meu primeiro dia no laboratório. Muito obrigado por todos os ensinamentos, apoio, incentivo, dedicação e por ter me dado a oportunidade de trabalhar com aquilo que eu gosto.

Agradecimentos

À Deus que se faz presente em todos os momentos da minha vida, pelas conquistas até o momento, mas peço a Ele para me dar sabedoria para conquistar muito mais.

À minha Coorientadora Aline Bolpetti pelo total apoio e dedicação no desenvolvimento deste trabalho.

Às queridas colegas de Laboratório: Amanda Della Coletta, Bruna Ramos, Camila Marconi, Carolina Pereira, Carolina Tafner, Eliane Vieira, Heloise Luchiari Jossimara Polettini, Larissa Marcolino, Laura Martin, Mariana Greatti, Natália Moço e Nathalia Noda pela total disponibilidade em fazer este trabalho se tornar possível. A dedicação de todas foi imprescindível. Agradeço pelo trabalho em grupo e a todos os momentos compartilhados.

De um modo especial as amigas conquistadas além-laboratório Bruna Ramos, Carolina Pereira, Laura Martin e Natália Moço, pela paciência e apoio incondicional em todos os meus momentos de maior necessidade. Foram fundamentais para a realização deste trabalho a amizade, o carinho, os puxões de orelha e a prontidão de vocês meninas em me ajudar sempre.

Ao Professor Hélio Nunes, por todas as análises estatísticas realizadas.

À secretária da Pós-Graduação Vânia Soler por sua competência e dedicação.

Ao Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, onde este trabalho foi realizado.

À secretaria de Saúde do Município de Botucatu, por possibilitar a realização deste trabalho.

Às Enfermeiras das Unidades Básicas de Saúde do Município de Botucatu que participaram da etapa crucial deste trabalho, por seu empenho em captar mulheres e seu cuidado com as pacientes visando sempre a saúde da mulher.

Aos amigos que fiz durante meu Aprimoramento no Setor de Citopatologia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, amigos que contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal. Guardo todos no meu coração.

À CNPq pela bolsa de Mestrado e FAPESP (Processo: 2012/01278-0) pelo auxílio pesquisa concedido.

Às mulheres que aceitaram participar do estudo, por sua disponibilidade e confiança no projeto.

Obrigado a todas as pessoas que contribuíram para a realização não só deste trabalho, mas para o meu crescimento como pessoa. Sou o resultado da confiança e da força de cada um de vocês.

Resumo

Resumo

Objetivo: Descrever a prevalência e fatores associados à coinfeção por Papilomavírus Humano (HPV) e *Chlamydia trachomatis* (CT) em mulheres em idade reprodutiva. **Pacientes e Métodos:** Foram incluídas no estudo 1.590 mulheres, de 14 a 54 anos, atendidas nas Unidades de Atenção Básica à Saúde do Município Botucatu, São Paulo, entre o período de setembro de 2012 a janeiro de 2013. Os dados sociodemográficos, comportamentais e ginecológicos foram obtidos por entrevista. Durante o exame ginecológico, foram coletadas amostras endocervicais com *cytobrush* para pesquisa de HPV, CT e *Neisseria gonorrhoeae*, pela técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Amostras do terço médio da parede vaginal foram coletadas com *swab* para avaliar o padrão de microbiota vaginal e do fundo de saco para pesquisa de infecção por *Trichomonas vaginalis* por cultura pelo meio de Diamond. O exame cérvico-vaginal convencional foi classificado de acordo com o sistema de Bethesda. As variáveis contínuas e categóricas foram analisadas pelo modelo de regressão logística para identificar os fatores associados à coinfeção HPV e CT. O Software utilizado foi o SAS (versão 9.2, SAS Institute, Cary NC) e o nível de significância adotado foi de 5%. **Resultados:** A mediana da idade das mulheres foi de 32 anos de idade (14 - 54), 61,13% se declarou branca, 64,59% eram casados ou viviam com parceiro, 46,1% já haviam concluído o ensino médio e 13,71% se declararam universitárias ou com curso superior concluído. No momento da inclusão no estudo, 87,98% se declararam sexualmente ativas sendo que a mediana do número de parceiros ao longo da vida foi de 2 (1-300) e 68,6% iniciaram a vida sexual entre 15 e 20 anos de idade. A prevalência de vaginose bacteriana, candidíase, infecção por *T. vaginalis* e endocervicite por *N. gonorrhoeae* foi de 29,30%, 5,09%, 1,32% e 0,62%, respectivamente.. A prevalência de lesões associadas ao HPV foi de 2,38%. Neste estudo, a taxa de coinfeção de HPV e CT foi de 4,40%. Em relação aos fatores associados ao HPV e à infecção por CT, mulheres que relataram o consumo frequente de álcool apresentaram risco aumentado para infecção pelo HPV (OR = 1,37; IC95% = 1,07-1,74) e para a infecção por CT (OR = 1,56; IC95% = 1,05-2,30). Aumento da idade da menarca mostrou ser fator associado à coinfeção (OR = 1,21; IC95% = 1,04-1,41). Por outro lado, observou-se que o risco de coinfeção diminuiu com o aumento da idade (OR = 0,94; IC95% = 0,90-0,98). Além disso, efeito protetor em relação à coinfeção por HPV e CT foi observado em mulheres que se declararam casadas/ vivendo com parceiro (OR = 0,29; IC95% = 0,16-0,53). **Conclusões:** A prevalência de coinfeção por HPV e CT é alta, o que sugere que os programas de rastreio para detectar essas infecções poderiam ser úteis para estabelecer estratégias de prevenção na nossa população. Este estudo epidemiológico pode contribuir para o entendimento na nossa população, de duas das principais infecções sexualmente transmissíveis do mundo, além fornecer informações adicionais a respeito de comportamentos de alto risco.

Sumário

Sumário

Capítulo I

Revisão de literatura.....	3
Refencias bibliográficas.....	10

Capítulo II

Article: Coinfection prevalence and risk factors of Human Papillomavirus (HPV) and Chlamydia trachomatis in reproductive-aged women attending cervical screening in the Southeast of Brazil

1. Abstract.....	16
2. Introduction.....	17
3. Patients and Methods.....	18
4. Results.....	20
5. Discussion.....	28
6. References.....	30

Capítulo III

Conclusão.....	34
----------------	----

Anexos.....	35
--------------------	-----------

Capítulo I
Revisão da Literatura

1. Papilomavirus Humano (HPV)

1.1 Epidemiologia

O Papilomavírus Humano (HPV) é responsável por uma das infecções sexualmente transmissíveis virais mais comuns em todo o mundo e que se encontra presente em grande parcela da população, sendo a maior parte das mulheres infectadas logo após o início da atividade sexual¹.

Enquanto a estimativa global de prevalência de HPV é reportada como sendo de 11,7%, as prevalências específicas variam de 1,6% a 41,9%². Essa variação depende da população, região e país sendo a prevalência de HPV maior em regiões em desenvolvimento (14,3%) do que em regiões desenvolvidas (10,3%). A distribuição da infecção HPV tipo-específica também varia nas regiões geográficas e alguns tipos específicos são mais prevalentes na região Ásia Pacífico do que em outras regiões³.

Entretanto, as infecções por HPV são, em geral, de caráter transitório, sendo a maioria delas eliminadas pelo sistema imunológico no período de 1 a 2 anos⁴.

1.2 Biologia do vírus

O HPV é um vírus da família *Papillomaviridae*, não envelopado, com DNA circular de fita dupla com aproximadamente 8000 pares de base que infecta células dos tecidos epitelial e mucoso^{5, 6}.

A organização genômica do vírus é bem conservada, e o genoma viral está dividido em 3 regiões: a região regulatória (LCR, *long control region*), região precoce (*early*) e região tardia (*late*). A região LCR contém a origem de replicação do DNA, responsável pela regulação da expressão gênica. Os genes L1 e L2, localizados na região tardia, codificam as proteínas do capsídeo viral (Figura 1)⁷. Os genes da região precoce, E1 e E2, codificam proteínas envolvidas na replicação do DNA viral e no controle da transcrição. Os genes E6 e E7 codificam proteínas com atividade de transformação e imortalização celular⁸.

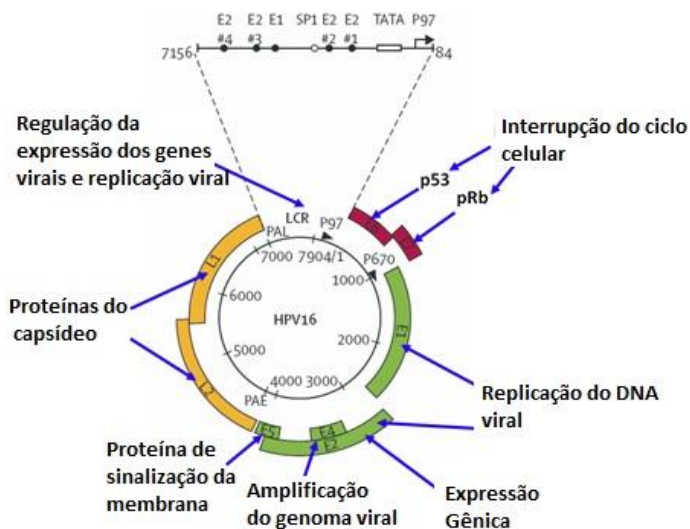


Figura 1: Representação esquemática do genoma de um Papilomavírus Humano (HPV-16), evidenciando a região regulatória (LCR), as regiões precoces (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) e as regiões tardias (L1 e L2). Adaptado de Schiffman et al. 2007.

Atualmente na literatura são descritos mais de 150 tipos de HPV, que são diferenciados em 5 grupos de acordo com seu tropismo epitelial e doenças associadas. Os HPVs associados às infecções nas mucosas pertencem a família dos Alfa Papilomavírus, e são classificados quanto ao seu potencial oncogênico. Os HPV de baixo risco oncogênico estão associados ao desenvolvimento de verrugas genitais, enquanto os tipos de alto risco estão relacionados às lesões pré-neoplásicas e ao câncer de colo do útero¹⁰. Os HPVs de alto risco mais comumente encontrados são: HPV-16, 18, 31, 33 e 45, sendo que os HPVs 16 e 18 juntos são responsáveis por mais de 70% dos casos de carcinomas epidermóides e mais de 80% dos adenocarcinomas do colo do útero^{10, 11}. O potencial oncogênico do HPV está relacionado principalmente à capacidade de expressar os oncogenes E6 e E7 que resultam na inativação das proteínas p53 e Rb, respectivamente, interferindo no ciclo celular e nos genes supressores de tumor¹². A pRB expressa nas células do hospedeiro regula negativamente o ciclo celular e associa-se com os fatores de transcrição da família E2F para prevenir a entrada das células na fase de síntese do ciclo celular. A ligação de E7 viral à pRB resulta no rompimento do complexo pRb/E2F e início da síntese de proteínas necessárias para a replicação de DNA. Em adição aos eventos exercidos por E7, a oncoproteína viral E6 interage e induz a degradação proteolítica da proteína supressora de tumor p53, responsável pela promoção de apoptose de células com dano de DNA. A p53 regula a expressão da proteína p21 que se associa às ciclinas D e E, e inibe as quinases dependentes destas ciclinas, induzindo indiretamente a parada do ciclo celular em

G1. Além disso, p53 induz apoptose por ativar diretamente os genes de morte responsáveis pela eliminação de células neoplásicas. A anulação dessas funções dos reguladores de tumor por proteínas virais resulta na aberrante progressão do ciclo celular e na instabilidade genômica, etapas fundamentais para o desenvolvimento de malignidade induzida por HPV^{13, 14}.

1.3 Infecção Viral

O HPV apresenta tropismo por células epiteliais, causando infecções no tecido de revestimento, tais como a pele e mucosas. O seu ciclo de vida, que está diretamente relacionado ao processo de diferenciação da célula hospedeira, inicia-se com a infecção de células epiteliais basais que provavelmente foram expostas à microtraumas, lesões ou abrasões na epiderme (Figura 2)⁹. O vírus se utiliza da alta capacidade destas células de se reproduzirem para a replicação de seu DNA viral, e, dependem da expressão dos genes precoces que estimulam o ciclo celular¹⁵. Nas camadas mais diferenciadas do epitélio, há produção de novos capsídeos e liberação da progênie viral¹⁶. O HPV é capaz de evadir-se do sistema imunológico do hospedeiro através de inúmeros mecanismos, dentre eles, está o de não indução de citólise e de necrose. Outro mecanismo de evasão consiste no fato de proteínas virais imunogênicas serem liberadas apenas por células epiteliais das camadas mais diferenciadas, portanto menos acessíveis pela vigilância imunológica¹⁷.

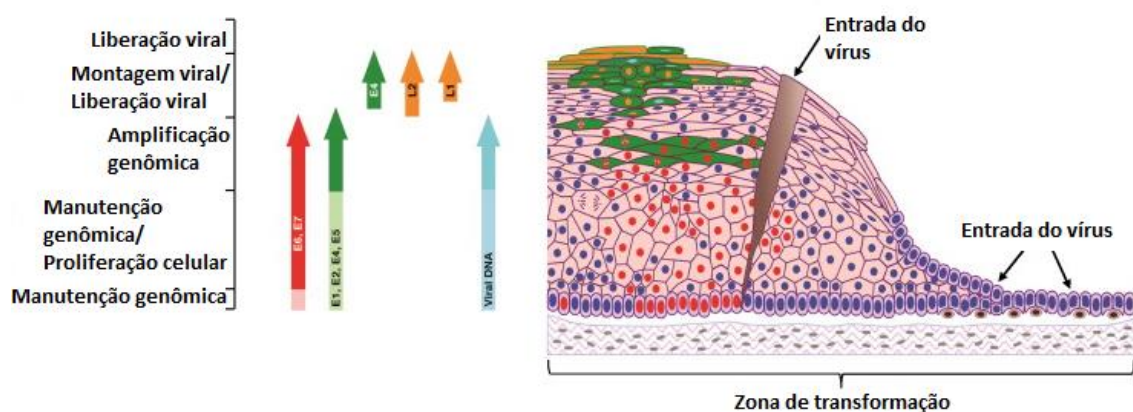


Figura 2: Estrutura das células epiteliais escamosas e os principais estágios do ciclo de vida do HPV após a infecção.

Adaptado de Doorbar et al. 2012.

2. Fatores associados à infecção por HPV

A transmissão do HPV se dá por contato direto, pele a pele, portanto a penetração sexual é a forma mais comum de transmissão do vírus¹⁸. Sendo assim, os comportamentos sexuais são determinantes para o aumento do risco de infecção por HPV. Os fatores associados à infecção pelo HPV podem ser divididos em três grupos: (1) Ambientais ou fatores exógenos, que incluem dietas deficientes, uso de contraceptivo hormonal, múltipla paridade, múltiplos parceiros sexuais, iniciação sexual precoce, consumo de álcool e tabaco, e coinfeção por outros agentes sexualmente transmissíveis; (2) Aspectos inerentes ao vírus, tais como, infecção por HPV de alto e baixo risco oncogênico, infecções por múltiplos genótipos virais, infecções por variantes de HPV de alto risco que diferem quanto ao potencial oncogênico, carga viral e integração do DNA viral ao DNA da célula hospedeira; (3) Fatores inerentes ao hospedeiro, como os hormônios endógenos, fatores genéticos (polimorfismos de HLA) e fatores relacionados à resposta imunológica^{19, 20, 21}.

Com relação ao uso de preservativos como fator associado à infecção pelo HPV, existem ainda alguns paradoxos na literatura^{22, 23, 24, 25, 26}. O uso de preservativos masculinos, mostrou efeito protetor considerável, quando usado corretamente e de forma consistente, em relação a aquisição de infecções sexualmente transmissíveis, incluindo, tricomoníase, cervicite clamidiana, gonorréia e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Os dados sobre efeito protetor em relação às infecções de HPV e às lesões cervicais relacionadas têm sido menos consistente. Em revisão sistemática Manhart & Koutsky²⁷ identificaram 20 estudos relevantes e os resultados não são homogêneos. A inconsistência a respeito do efeito protetor sugere que os preservativos não constitui método altamente eficaz em prevenir as infecções por HPV. De forma geral, homens e mulheres optam por usar preservativos com parceiros que eles consideram ser de maior risco, como novos parceiros, parceiros casuais e profissionais do sexo. Por outro lado, não o utilizam com parceiros que consideram ser seguros, como os parceiros regulares e os cônjuges. As normas culturais desempenham papel importante na forma como as informações confidenciais são divulgadas para os pesquisadores. Como o uso de preservativos é socialmente desejável, pode ser relatado mais frequentemente do que justificado pela realidade, o que torna os dados a cerca do uso de preservativos de difícil interpretação^{28, 29}.

Com relação ao uso de contraceptivo oral, estudos relatam que a prevalência de HPV em mulheres que o utilizam é maior quando comparada com a prevalência em mulheres que

nunca usaram contraceptivo^{30, 31}. Segundo Lee³² os níveis hormonais afetam sobremaneira a composição do microbioma vaginal, sugerindo que o uso de contraceptivo oral possa ser considerado um risco independente para infecção por HPV devido sua habilidade de alterar o microbioma vaginal.

A infecção concomitante por outros agentes sexualmente transmissíveis ou pelo *core* patológico da microbiota vaginal alterada, têm sido associados com processos inflamatórios do colo do útero, situação que pode facilitar à aquisição de HPV^{2,33, 34, 35}. Lesões herpéticas ulcerativas podem agir como cofatores do HPV, facilitando o acesso do vírus para a camada de células basais. Respostas inflamatórias induzidas por infecções herpéticas podem interferir na capacidade do hospedeiro de montar uma resposta imune eficaz para a infecção por HPV, suprimindo linfócitos T auxiliares e alterando o estabelecimento de uma resposta imune celular mediada por linfócitos T³⁶.

Outro agente sexualmente transmissível que tem sido associado à infecção por HPV é a infecção pela bactéria *Chlamydia trachomatis*. O processo inflamatório, e consequente dano oxidativo decorrente da inflamação clamidiana, pode facilitar a infecção pelo HPV, e sua persistência pode estar associada ao desenvolvimento de lesão cervical³⁷. Alguns estudos têm apontado a infecção por *C. trachomatis* como importante cofator associado ao desenvolvimento de neoplasias do colo uterino^{38, 39}, embora ainda existam controvérsias^{40, 41}. Os estudos que descrevem associação entre presença de infecção por *C. trachomatis* e aumento do risco do desenvolvimento de doença induzida pelo HPV, sugerem que este patógeno é capaz de promover um cenário pró-inflamatório, levando a produção de grandes quantidades locais de citocinas pró-inflamatórias, produzindo um ambiente inflamatório crônico que pode contribuir possivelmente para a persistência do DNA do HPV no colo do útero⁴². O mecanismo biológico pelo qual a *C. trachomatis* atua a fim de facilitar a aquisição do HPV ainda é uma difícil questão a ser avaliada. Uma vez que ambos os agentes microbianos estão fortemente relacionados com a atividade sexual, dificultando a avaliação de um efeito independente da infecção por *C. trachomatis* sobre o risco de infecção por HPV².

3. *Chlamydia trachomatis*

3.1 Epidemiologia

As infecções por CT estão entre as doenças sexualmente transmissíveis bacterianas mais comuns nos dias atuais^{22,23} e de acordo com estimativas da Organização Mundial de Saúde

(OMS), mais de 101.5 milhões de novos casos da infecção surgem por ano⁴³. Estimativas globais de novos casos de *Chlamydia trachomatis* mostraram um aumento de 4,1% entre o período de 2005 com 101,5 milhões e 2008 com cerca de 105,7 milhões de novos casos⁴⁴. Este aumento tem sido observado também em outros países, como Reino Unido. Na Europa a prevalência de infecção por CT varia entre 1.7% e 17.0%^{40,45,46,47}.

No Brasil existem apenas trabalhos regionais que relatam a prevalência de infecção por CT, tornando difícil obter uma estimativa global da prevalência desta bactéria na população geral. Por exemplo, a prevalência de infecção por CT em Porto Alegre varia de 0.6%⁴⁸ a 11,0%⁴⁹; na região de Goiânia chega a 19.6%⁵⁰; 8.9% em Vitória⁵¹; 19,0% em Minas Gerais⁵² e 20.7% em Manaus⁵³, sendo que essa infecção está relacionada à doença inflamatória pélvica (DIP)⁵⁴, gravidez ectópica e infertilidade, significando importante problema de saúde pública⁵⁵.

3.2 Biologia

A *Chlamydia trachomatis* é uma bactéria gram-negativa, intracelular obrigatória, patogênica de grande importância do ponto de vista clínico. Possui seu ciclo de vida dividido em dois períodos distintos⁵⁶. A forma infectante, denominada Corpúsculo Elementar (CE), é uma estrutura semelhante ao esporo, rígida e resistente ao rompimento. Trata-se de uma estrutura metabolicamente inativa que por ação de mediadores, anticorpos e receptores é interiorizado pela célula. O compartimento fagocítico é rapidamente modificado por proteínas bacterianas para gerar um vacúolo parasitóforo. Dentro do endossomo, o CE diferencia-se em um Corpo Reticulado (CR), a forma metabolicamente ativa e capaz de se replicar através da divisão por fissão binária. Durante o ciclo infeccioso, o endossomo se expande e se diferencia novamente em CE. Estes, recém-formados, são eventualmente liberados por lise e/ou extrusão celular para iniciar novos ciclos de infecção⁵⁷.

Um aspecto que chama a atenção para a infecção pela CT é o fato de cerca de 70,0% das mulheres infectadas serem assintomáticas⁵⁰, representando, portanto, um importante desafio diagnóstico da infecção. Estas mulheres não estão apenas sujeitas às complicações crônicas decorrentes da infecção, mas também, sustentam a infecção possibilitando sua transmissão para a população. As complicações decorrentes da infecção por *C. trachomatis* vão desde cervicites e uretrites até processos patológicos crônicos graves como a DIP, gravidez ectópica e infertilidade⁵⁸.

Os principais fatores de risco para infecção por CT descritos na literatura são: multiparidade, atividade sexual precoce, ter até 25 anos de idade, ser solteiro, ter múltiplos parceiros sexuais, manter relações sexuais sem o uso de preservativos, ser portador de outras DSTs, consumo de tabaco e uso de contraceptivos hormonais⁴⁹. Fatores como prurido e outros sintomas de desconforto na região urogenital também estão associados ao aumento do risco de infecção por CT^{59,60}.

O estudos de prevalência de infecções por HPV e CT assim como de seus fatores associados se justificam pois são significantes para o entendimento da história natural dessas infecções bem como conhecer situações que aumentem a probabilidade de ocorrência desses agravos à saúde.

4. Referências bibliográficas

1. Baudu A, Prétet JL, Riethmuller D, et al. Prevalence and risk factors of human papillomavirus infection types 16/18/45 in a cohort of French females aged 15-23years. J Epidemiol Glob Health 2014; 4:35-43.
2. Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, et al. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta analysis of 1 million women with normal cytological findings. J Infection Dis 2010; 202:1789-99.
3. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. Lancet 2005; 366:991-8.
4. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. Vaccine 2006;1:S1-15.
5. Sarchianaki E, Derdas SP, Ntaoukakis M, et al. Detection and genotype analysis of human papillomavirus in non-small cell lung cancer patients. Tumour Biol.2014;35:3203-9.
6. Storey R, Joh J, Kwon A, et al. Detection of Immunoglobulin G against E7 of Human Papillomavirus in Non-Small-Cell Lung Cancer. J Oncol 2013; 240164.
7. Schiffman M, Castle PM, Jeronimo J, et al. Human papillomavirus and cervical cancer. Lancet 2007 370(9590):890-907.
8. Munger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. Virus Res 2002; 89:213-28.
9. Doorbar J, Quint W, Banks L, et al. The biology and life-cycle of Human Papillomaviruses. Vaccine 2012; 30:F55–F70.
10. Bosch FX, de Sanjosé S.. Human papillomavirus and cervical cancer--burden and assessment of causality. J Natl Cancer Inst Monogr 2003; 31:3-13.

11. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer* 2007;121:621-32.
12. Giuliani L, Favalli C, Syrjanen K, et al. Detection of E6 and E7 transcripts and review of the literature. *Anticancer Res* 2007;27:2697-704.
13. White E. Tumour biology. p53, guardian of Rb. *Nature*.1994; 371:21-2.
14. Havre PA, Yuan J, Hedrick L, et al. p53 inactivation by HPV16 E6 results in increased mutagenesis in human cells. *Cancer Res* 1995;55:4420-4.
15. MCMurray HR, Nguyen D, Westbrook TF, et al. Biology of human papillomaviruses. *Int J Exp Pathol* 2001;82:15-33.
16. Hebner CM, Laimins LA. Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity. *Rev Med Virol* 2006;16:83-97.
17. Veldhuijzen NJ, Snijders PJF, Reiss P, et al. Factors affecting transmission of mucosal human papillomavirus. *Lancet Infect Dis* 2010;10: 862–74.
18. Münger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res* 2002;89:213-28.
19. Lee H, Lee DH, Song YM, et al. Risk factors associated with human papillomavirus infection status in a Korean cohort. *Epidemiol Infect* 2014;142: 1579-89.
20. Figueiredo Alves RR, Turchi MD, Santos LE, et al. Prevalence, genotype profile and risk factors for multiple human papillomavirus cervical infection in unimmunized female adolescents in Goiânia, Brazil: a community-based study. *BMC Public Health* 2013; 13:1041.
21. Kotloff KL, Wasserman SS, Russ K, et al. Detection of genital human papillomavirus and associated cytological abnormalities among college women. *Sex Transm Dis* 1998;25:243-50.

22. Thomas I, Wright G, Ward B. The effect of condom use on cervical intraepithelial neoplasia grade I (CIN I). *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1990;30:236-9.
23. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, et al. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998;338:423-8.
24. Moscicki AB, Hills N, Shiboski S, et al. Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA* 2001;285:2995-3002.
25. Hogewoning CJ, Bleeker MC, van den Brule AJ, et al. Condom use promotes regression of cervical intraepithelial neoplasia and clearance of human papillomavirus: a randomized clinical trial. *Int J Cancer* 2003; 107:811-6.
26. Winer RL, Hughes JP, Feng Q, et al. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 2006; 354:2645-54.
27. Manhart LE, Koutsky LA. Do condoms prevent genital HPV infection, external genital warts, or cervical neoplasia? A meta-analysis. *Sex Transm Dis* 2002; 29:725-35.
28. McCallum EB, Peterson ZD. Investigating the impact of inquiry mode on self-reported sexual behavior: theoretical considerations and review of the literature. *J Sex Res* 2012;49: 212-6.
29. Fenton KA, Johnson AM, McManus S, et al. Measuring sexual behaviour: methodological challenges in survey research. *Sex Transm Infect* 2001;77: 84–92.
30. Moreno V, Bosch FX, Muñoz N. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002;359:1085-92.
31. Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus Res* 2002; 89:191-9.

32. Lee JE, Lee S, Lee H, et al. Association of the vaginal microbiota with human papillomavirus infection in a korean twin cohort. PLoS One 2013; 8: e63514.
33. Mendoza L, Mongelos P, Paez M, et al. Human papillomavirus and other genital infections in indigenous women from Paraguay: a cross-sectional analytical study. BMC Infect Dis 2013 13;531.
34. McIver CJ, Rismanto N, Smith C, et al. Multiplex PCR testing detection of higher-than-expected rates of cervical mycoplasma, ureaplasma, and trichomonas and viral agent infections in sexually active australian women. J Clin Microbiol 2009;47:1358-63.
35. Moscicki AB, Hills N, Shiboski S, et al. Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. JAMA 2001; 285:2995-3002.
36. Smith JS, Herrero R, Bosetti C. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. J Natl Cancer Inst 2002 6;94(21):1604-13.
37. Simonetti AC, Melo JH, de Souza PR, et al. Immunological's host profile for HPV and Chlamydia trachomatis, a cervical cancer cofactor. Microbes Infect 2009; 11:435-42.
38. Koskela P, Anttila T, Bjørge T, et al. Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer. Int J Cancer 2000; 85:35-9.
39. Wallin KL, Wiklund F, Luostarinen T, et al. A population-based prospective study of Chlamydia trachomatis infection and cervical carcinoma. Int J Cancer 2002; 101:371-4.
40. Bhatla N, Puri K, Joseph E, et al. Association of Chlamydia trachomatis infection with human papillomavirus (HPV) & cervical intraepithelial neoplasia - a pilot study. Indian J Med Res 2013; 137:533-9.
41. Castle PE, Escoffery C, Schachter J, et al. Chlamydia trachomatis, herpes simplex virus 2, and human T-cell lymphotropic virus type 1 are not associated with grade of cervical neoplasia in Jamaican colposcopy patients. Sex Transm Dis 2003; 30:575-80.

42. Silins I, Ryd W, Strand A, et al. Chlamydia trachomatis infection and persistence of human papillomavirus. Int J Cancer 2005; 116:110-5. Não deveria ser apenas 3 autores e et al.?
43. World Health Organization (WHO). Prevalence and incidence of selected sexually transmitted infections, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, syphilis and Trichomonas vaginalis. Methods and results used by WHO to generate 2005 estimates. Geneva: WHO; 2011. Available from: http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241502450_eng.pdf.
44. World Health Organization (WHO). Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections – 2008
45. Agrawal T, Vats V, Salhan S, et al. The mucosal immune response to Chlamydia trachomatis infection of the reproductive tract in women. J Reprod Immunol 2009; 83:173-8. Não deveria ser apenas 3 autores e et al.?
46. Haar K, Bremer V, Houareau C, et al. Risk factors for Chlamydia trachomatis infection in adolescents: results from a representative population-based survey in Germany, 2003-2006. Euro Surveill 2013; 18: 20562.
47. Wilson JS, Honey E, Templeton A, et al. A systematic review of the prevalence of Chlamydia trachomatis among European women. Hum Reprod Update 2002;8:385-94.
48. Ramos MC, Becker D, Germany C, et al. Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae prevalence among women living in a low income neighborhood - a populational survey in Porto Alegre, Brazil. J Bras Doenças Sex Transm 2003; 15:20-25.
49. Garcês AX, de Martinez AM, Gonçalves CV, et al. Prevalence of Chlamydia trachomatis and risk factors associated with infection detected in endocervical sample. Rev Bras Ginecol Obstet. 2013; 35:379-83.
50. Araújo RS, Guimarães EM, Alves MF. et al. Prevalence and risk factors for Chlamydia trachomatis infection in adolescent females and young women in central Brazil. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006; 25(6):397-400

51. Miranda AE, Szwarcwald CL, Peres RL, et al. Prevalence and risk behaviors for chlamydial infection in a population-based study of female adolescents in Brazil. *Sex Transm Dis* 2004;31:542-6.
52. Lima HE, Oliveira MB, Valente BG. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* from endocervical specimens in Brazil. *Sex Transm Dis* 2007;34:709-17.
53. Santos C, Teixeira F, Vicente A, et al. Detection of *Chlamydia trachomatis* in endocervical smears of sexually active women in Manaus-AM, Brazil, by PCR. *Braz J Infect Dis* 2003; 7:91-5.
54. Dayan L. Pelvic inflammatory disease. *Aust Fam Physician* 2006;35:858-62.
55. Wasserheit JN. Epidemiological synergy. Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases. *Sex Transm Dis* 1992;19:61-77.
56. Bastidas RJ, Elwell CA, Engel JN, et al. Chlamydial intracellular survival strategies. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013 1;3:a010256.
57. Cotran R S, Kumar V, Robbins S T. Robbins: Patologia estrutural e funcional. 5ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1996.
58. Carey AJ, Beagley KW. *Chlamydia trachomatis*, a hidden epidemic: effects on female reproduction and options for treatment. *Am J Reprod Immunol* 2010; 63:576-86.
59. Lima HE, Oliveira MB, Valente BG. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* from endocervical specimens in Brazil. *Sex Transm Dis* 2007; 34:709-17.
60. Gravningen K, Simonsen GS, Furberg AS, et al. Factors associated with *Chlamydia trachomatis* testing in a high school based screening and previously in clinical practice: a cross-sectional study in Norway. *BMC Infect Dis* 2013;13:361.

Capítulo II
Artigo Científico

Coinfection prevalence and risk factors of Human Papillomavirus (HPV) and *Chlamydia trachomatis* in reproductive-aged women attending cervical screening in the Southeast of Brazil

Pinto GVS¹, Bolpetti AN¹, Villa LL², Pereira Martins AC¹, Vieira EP¹, Machado MCH³, Silva MG¹.

¹ Department of Pathology, Botucatu Medical School, São Paulo State University, UNESP

² Department of Radiology and Oncology, School of Medicine, University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil.

³ Department of Health, Municipality of Botucatu, São Paulo State, Brazil.

1. Abstract

Objectives: The goals of this study were to determine the *Chlamydia trachomatis* and Human Papillomavirus (HPV) coinfection prevalence in reproductive-aged women and identify certain risk factors associated with these infections. **Patients and Methods:** A total of 1590 reproductive-aged women attended at Primary Health Care Units in Botucatu, Brazil, from September 2012 to January 2013, were included. A questionnaire concerning sociodemographic characteristics, sexual behavior and clinical history was applied. Following the interview, the women were submitted to a gynecological examination and cervical samples were collected with an endocervical cytobrush for molecular analysis of HPV, *C. trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. Mid-vaginal wall samples were collected using a cotton swab to evaluate the vaginal flora pattern and additional vaginal samples were taken to assess infection by *Trichomonas vaginalis* detected by Diamond media culture. Pap smears were classified according to the Bethesda system. Continuous and categorical variables were analyzed by stepwise logistic regression model to identify risk factors associated with HPV and *Chlamydia trachomatis* coinfection. SAS software (Version 9.2, SAS Institute, Cary NC) was used and $p < 0.05$ was considered statistically significant. **Results:** Patient median age was 32 years-old (14- 54), and the majority defined themselves as white (61.1%), 64. 6% were married or living with a partner, 46.1% had completed high school and only 13.7% had studied at or completed college. At the moment of enrollment 88.0% were sexually active, the median of lifetime partners was 2 (1-300) and 68.6% had initiated sexual intercourse between 15 and 20 years of age. The prevalence of bacterial vaginosis, candidosis, *T. vaginalis* and *N. gonorrhoeae* infection was 29.3%, 5.1% 1.3% and 0.6%, respectively. The prevalence of HPV-associated lesions was 2.4%. In this study, the overall coinfection rate of HPV and *C. trachomatis* was 4.4%. Regarding HPV and *Chlamydia trachomatis* infection risk factors, women who reported frequent alcohol consumption showed increased risk, HPV= (OR=1.37; 95%CI=1.07–1.74) and CT= (OR=1.56; 95%CI=1.05–2.30). Increase in age at menarch showed a risk factor for coinfection (OR=1.21; 95%CI=1.04-1.41). In contrast, we observed that the risk of coinfection decreased with increasing age

(OR=0.94; 95%CI=0.90-0.98). In addition, a protective effect against HPV and *Chlamydia trachomatis* coinfection was observed in women who reported being married/living with a partner (OR=0.29; 95%CI=0.16-0.53). **Conclusions:** The overall coinfection prevalence of HPV and *Chlamydia trachomatis* is high, suggesting that screening programs to detect these infections could be helpful in establishing prevention strategies in our population. This epidemiological study may contribute to providing additional information concerning high-risk behaviors in this population, and may help people avoid such behaviors.

2. Introduction

Genital infections with oncogenic types of Human Papillomavirus (HPV) are very common among sexually active women, but only a minority of them will present a persistent HPV infection and develop cervical cancer¹. High-risk HPV infections are also thought to be associated with other anogenital diseases, such as 85% of anal cancers and 50% of the cancers of the vulva, vagina and penis². While the high risk HPV types have been established as the main causative agent of both malignancies and the precursor lesions, other factors may also be involved, acting in conjunction with HPV, such as other sexually transmitted infections (STI), smoking and host immunological response. Several behaviors, such as oral contraceptive use, sexual activities, tobacco and alcohol consumption, may influence the risk of initial viral infection and subsequent clearance of the virus^{1, 3}. Considering the economic importance of cervical cancer in developing countries, the need for prospective studies of HPV prevalence and its risk factors is heightened.

Chlamydia trachomatis infection is one of the most common Sexually transmitted infections (STI) affecting more than 90 million people worldwide⁴. According to some studies, *C. trachomatis* may be an important cofactor associated with the development of cervical diseases^{5, 6} and this association is probably caused by an induction of a local inflammation process that can contribute to HPV persistence in cervical cells^{7, 8}. However, this subject is controversial, since while data collected suggest that *C. trachomatis* infection may play an important role in the natural history of HPV infection^{9, 10}, some results suggest there is no association between *C. trachomatis* infection and most of its risk factors, including HPV infection in women¹¹.

Considering that, an association between HPV and *C. trachomatis* might well exist, the goals of this study were to determine the coinfection prevalence of *C. trachomatis* and HPV in reproductive-aged women and identify certain risk factors associated with these infections.

3. Patients and Methods

The study enrolled a total of 1590 women of reproductive age attended at Primary Health Care Units in Botucatu, a city in the interior of southeastern Brazil. They were included between September 2012 and January 2013. The criteria for eligibility included women who were: nonpregnant, non-menopausal, no hysterectomy, no prior report of seroconversion for HIV, no antibiotic or vaginal cream used in the preceding 30 days, and abstinence from sexual intercourse for 72 hours before the visit. An appropriate questionnaire containing 58 questions concerning sociodemographic characteristics, sexual behavior and clinical history was applied by trained nursing staff from Botucatu Medical School of São Paulo State University (FMB-UNESP). Following the interview, the women were submitted to a gynecological examination. After inserting a non-lubricated speculum, cervical samples were collected with an endocervical cytobrush for molecular analysis of HPV, CT and *Neisseria gonorrhoeae*. Mid-vaginal wall samples were collected using a cotton swab to evaluate the vaginal flora pattern and an additional vaginal sample was taken to assess infection by *Trichomonas vaginalis*. This study was approved by the Ethics Committee Board of Botucatu Medical School (UNESP), protocol 4121-2012.

Evaluation of HPV, Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae

DNA from cervical samples was extracted using an AmpliLute Liquid Media Extraction Kit (Roche Molecular Systems, Inc.), in accordance with the manufacturer's instructions. HPV genotyping was performed using the Linear Array Genotyping Test (Roche Molecular Systems, Inc.), which is able to identify 37 HPV genotypes. Reactions were amplified in a PerkinElmer TC9600 Thermal Cycler. A positive control and a negative control for HPV detection, provided by Roche Molecular Systems, were included in each assay. The human β -globin target was co-amplified to determine sample adequacy. The evaluation of *C. trachomatis* was performed with specific primers for PCR: CT1 (5' TAG TAA CTG CCA CTT CAT CA 3'), CT2 (5' TTC CCC TTG TAA TTC GTT GC 3'), PL6.1 (5' AGA GTA CAT CGG TCA ACG A 3') and PL6.2 (5' TCA CAG CGG TTG CTC GAA GCA 3'). PCR was performed using the Go Taq Green master mix (Promega Corporation, USA). Amplification parameters consisted of 40 cycles of 60 s at 95°C, 60 s at 55°C and 90 s at 72°C. The evaluation of *N. gonorrhoeae* was performed with specific primers for PCR: HO1 (5' GCT ACG CAT ACC CGC GTT GC 3') and H03 (5' CGA AGA CCT TCG AGC AGA CA 3'). PCR was performed using the Go Taq Green master mix (Promega Corporation, USA). Amplification parameters consisted of 40 cycles of 30 s at 94°C, 60 s at 55°C and 30 s at 74°C.

Evaluation of Trichomonas vaginalis

Infection by *T. vaginalis* was examined by culture of vaginal vault samples in Diamond's medium at 37°C. Presence of the motile protozoan was checked daily, for up to 3 days, using fresh wet-mount microscope slides prepared with aliquots from the culture.

Diagnosis of abnormal vaginal flora

Vaginal samples were spread onto glass microscope slides to classify vaginal flora following Gram-stain according to Nugent's scoring system: normal (scores 0-3), intermediate (4-6), and bacterial vaginosis (BV) (7-10), regardless the presence of symptoms or clinical findings¹². Vaginal candidiasis was based on the presence of yeast blastospores or pseudohyphae on the smears with accompanying inflammatory cells in the presence of vaginal discharge or vulvovaginal pruritus. All smears were evaluated by an experienced microscopist. All women with abnormal vaginal flora and/or positive for *C. trachomatis*, *Candida sp*, and *T. vaginalis* were treated in accordance with a protocol established by the Health Care Units from Botucatu city.

Cervical Cytology Screening

Pap smears were fixed in absolute ethanol, stained and read at the Cytology Unit of the Department of Pathology of FMB-UNESP, and were classified according to the Bethesda system.

Statistical Analysis

The median and range of continuous variables were determined, together with the frequency of HPV and chlamydial infection for each of the categorical variables. The Chi square or Fisher exact tests were performed to assess the differences in proportions of HPV and chlamydial infection in the categorical variables. In this analysis 1590 women were evaluated in this model. Regardless of the result in the univariate analyses, all continuous and categorical variables were entered in a stepwise logistic regression model, in order to eliminate all possible confounders and identify those factors independently associated with HPV and chlamydial coinfection. The software used was SAS (Version 9.2, SAS Institute, Cary NC) and $p < 0.05$ was considered statistically significant.

4. Results

Characteristics of the cohort

Of the total of 1590 women included in this study, full laboratory results were available for all participants and 1590 of them answered the entire questionnaire. Patient median age was 32 years-old (14- 54), and the majority defined themselves as white (61.13%) and most of the women were married or living with a partner (64.59%). In relation to education status, 46.10% had completed high school and only 13.71% had studied at college or completed a degree. In our population, 87.98% were sexually active at the moment of enrollment. Among sexually active women, the median of lifetime partners was 1 (0-22). In relation to their first sexual intercourse, 22.95% had initiated sexual intercourse before 15 years of age, 68.55% between 15 and 20 years of age and 8.49% at 21 or over. Regarding previous pregnancies, 80.56% reported at least one previous gestation at enrollment (Table 1).

Table 1: Selected characteristics of the participants at the enrollment

Variables	Overall Sample Median (range) or n (%)	HPV + Median (range) or n (%)	<i>C. trachomatis</i> + Median (range) or n (%)	Coinfection HPV/ <i>C. trachomatis</i> Median (range) or n (%)
Sociodemographic characteristics				
Age (years)	32 (14-54)	29 (15-50)	31 (15-49)	26 (15-46)
Education				
Elementary School	6 (0-8)	7 (0-8)	6 (1-8)	7 (1-8)
High School	11 (9-11)	11 (9-11)	11 (9-11)	11 (9-11)
College	15 (12-27)	15 (12-20)	13 (12-17)	13 (12-17)
Ethnicity				
White	972 (61.13%)	313 (58.72%)	85 (64.39%)	41 (65.07%)
Black	126 (7.92%)	49 (9.19%)	12 (9.09%)	8 (12.69)
Indian or descending	7 (0.44%)	3 (0.5%)	0	0
Mixed	468 (29.43%)	163 (30.58%)	33 (25%)	20 (31.74%)
Yellow	17 (1.06%)	5 (0.93%)	2 (1.51%)	0
Pregnancy history				
Age at menarch	13 (6-19)	13 (8-18)	13 (9-19)	13 (9-18)
Number of pregnancies	2 (0-10)	1 (0-10)	2 (0-10)	2 (0-10)
Number of natural births	1 (0-9)	1 (0-9)	1 (0-9)	1 (0-9)
Number of cesarean	0 (0-5)	0 (0-5)	0 (0-4)	0 (0-4)
Number of miscarriage	0 (0-4)	0 (0-3)	0 (0-2)	0 (0-2)
Sexual behavior				
Age at the first sexual intercourse (years)	16 (9-39)	16 (9-36)	16 (12-30)	16 (12-24)
Married/ living with a partner	1027 (64.59%)	255 (47.84%)	62 (46.96%)	23 (32.85%)
Hormonal contraceptive use	770 (48.42%)	312 (58.53%)	63 (47.72%)	40 (57.14)
Active sexual life	1399 (87.98%)	462 (86.67%)	111 (84.09%)	62 (88.57%)
Lifetime number of sexual partners	2 (1-300)	3 (1-100)	3 (1-30)	3 (1-23)
Number of eventual sexual partners	0 (0-150)	0 (0-96)	0 (0-30)	0 (0-16)
Number of unfaithful partners	0 (0-50)	0 (0-50)	0 (0-30)	0 (0-5)
Number of sexual partners in preceding year	1 (0-22)	1 (0-15)	1 (0-5)	1 (0-5)
Number of sexual partners practicing oral sex	1 (0-100)	1 (0-96)	1 (0-12)	1 (0-7)
Passive oral sex	719 (45.22%)	284 (53.28%)	57 (43.18%)	35 (50%)
Active oral sex	696 (43.77%)	273 (51.21%)	52 (39.39%)	30 (42.85%)
Anal sex	400 (25.15%)	146 (27.39%)	33 (25%)	16 (22.85%)
Condom use	629 (39.55%)	249 (46.71%)	59 (44.69%)	34 (48.57%)
Irregular condom use				
Clinical history				
Previous Pap test	1482 (93.20%)	493 (92.49%)	123 (93.18%)	64 (91.42%)
Previous HPV vaccine	7 (0.44%)	3 (0.56%)	1 (0.75%)	1 (1.42%)
Previous lesion on vulva/ vagina	235 (14.77%)	74 (13.88%)	22 (16.66%)	12 (17.14%)
Previous STD	140 (8.80%)	54 (10.13%)	10 (7.57%)	3 (4.28%)
Previous cervical lesion	366 (23.01%)	105 (19.69%)	32 (24.24%)	15 (21.42%)
Habits				
Tabacco smoking	286 (17.98%)	112 (21.01%)	23 (17.42%)	13 (18.57%)
Alcohol	578 (36.35%)	246 (46.15%)	63 (47.72%)	37 (52.85%)
Drugs	36 (2.26%)	18 (3.37%)	3 (2.27%)	3 (4.28%)
Total	1590	533	132	70

Analysis of vaginal flora patterns

Microscopic analysis of vaginal smears showed that 57.23% (910/1590) presented normal vaginal flora. The prevalence of BV was 29.30% (466/1590), followed by intermediate flora detected in 7.42% (118/1590) of women. The prevalence of candidiasis and *T. vaginalis* infection was 5.09% and 1.32%, respectively. Ten cases of *N. gonorrhoeae* were detected (0.62%) .

Cervical Cytology Screening

The prevalence of HPV-associated lesions was 2.38% (38/1590). These women presented high or low-grade squamous intraepithelial lesions. The mean age among women with cervical lesions was 29 years-old (29 ± 7.92) and 73.68% of them reported at least 2 lifetime partners. Moreover, we detected infection with multiple HPV genotypes in 68.42% and HR-HPV in 84.21% of these women.

HPV and Chlamydia trachomatis prevalences

According to the HPV analysis, the overall prevalence of HPV infection was 33.52%(Table 2). Within these HPV-positive women, 42.40% (226/533) of them had multiple-type infection. Among women with multiple-type infection, 187 (82.74%) of them had one or more high-risk HPV genotype (data not shown). The most prevalent HPV type was HPV-16 (18.19%), followed by other high-risk HPV, HPV-52 (8.25%), 58 (7.69%) and 31 (6.75%), all observed in similar proportions. The most prevalent low-risk HPV was HPV-53 (9.56%) (Table 2). In relation to *C. trachomatis* infection, we detected 132 cases testing positive (8.30%), and within HPV-positive women, 11.63% (62/533) of them were also positive for CT (Figure 1). In this study, the overall coinfection rate of HPV and *C. trachomatis* was 4.40% (70/1590).

Table 2: HPV infection among women attending cervical screening in Botucatu, SP, Brazil.

HPV status		n(%)
Single infection		307 (57.59%)
Multiple infection		226 (42.40%)
HR-HPV	HPV-16	97 (18.19%)
	HPV-52	44 (8.25%)
	HPV-58	41 (7.69%)
	HPV-31	36 (6.75%)
LR-HPV	HPV-53	51 (9.56%)
	HPV-66	48 (9.00%)
Total		533 (33.52%)

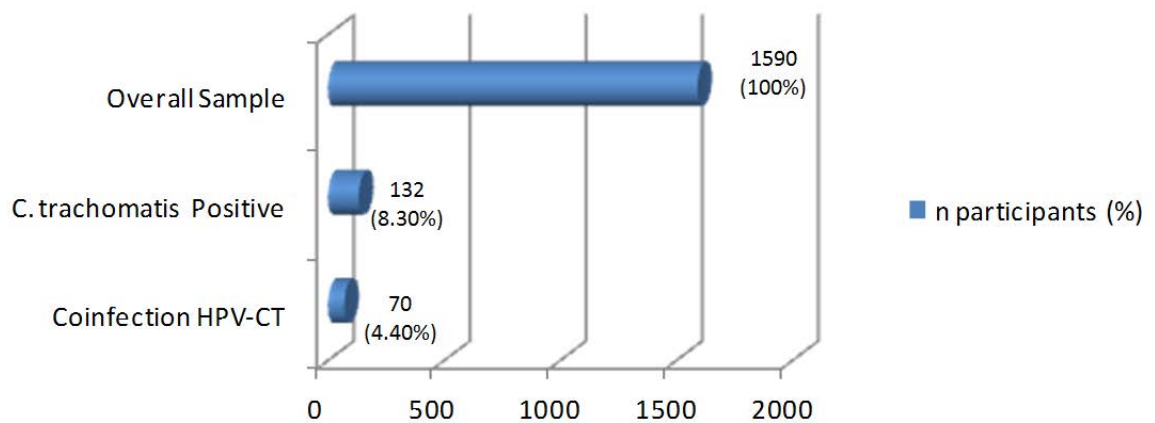


Figure 1: Infection by *Chlamydia trachomatis* and HPV among participants at the enrollment.

HPV risk factors

Regarding contraceptive use, women who reported hormonal contraceptive use showed a greater risk of presenting HPV infection of at least 1,42-fold (95%CI=1.07-1.80). Women who reported frequent alcohol consumption showed an increased risk of HPV infection (OR=1.37; 95%CI=1.07–1.74). In contrast, a protective effect against HPV infection was observed in women who reported being married/living with a partner (OR=0.44; 95%CI=0.34–0.57). In addition, we observed that the risk of HPV infection decreased with the increase in age (OR=0.96; 95%CI=0.94-0.97) (Table 4).

***Chlamydia trachomatis* risk factors**

Regarding alcohol, women who reported frequent consumption showed increased risk of *C. trachomatis* infection (OR=1.56; 95%CI=1.05–2.30). In contrast, a protective effect against this infection was observed in women who reported ~~to~~ being married/living with a partner (OR=0.50; 95%CI=0.32-0.78). Additionally, we observed that the risk of CT infection decreased with the increase in age (OR=0.97; 95%CI=0.95-1.00) (Table 5).

HPV and *Chlamydia trachomatis* coinfection risk factors

Regarding, increase in age at menarch showed a risk factor for coinfection showed increased risk of HPV and *Chlamydia trachomatis* coinfection (OR=1.21; 95%CI=1.04-1.41). In contrast, a protective effect against HPV and *Chlamydia trachomatis* coinfection was observed in women who reported being married/living with a partner (OR=0.29; 95%CI=0.16-0.53). Moreover, we observed that the risk of coinfection decreased with the increase in age (OR=0.94; 95%CI=0.90-0.98) and we observed that the risk of coinfection decreased with increasing age (OR=0.94; 95%CI=0.90-0.98) (Table 6).

Table 4: Multiple logistic regression adjusted for the HPV positivity.

Variable	P	OR	IC95%	
Sociodemographic				
Age (years)	0,000	0,96	0,94	0,97
Married/ Living with a partner	0,000	0,44	0,34	0,57
Education	0,623	1,01	0,97	1,05
Pregnancy history				
Age at menarch	0,151	1,05	0,98	1,12
Number of pregnancies	0,302	0,92	0,78	1,08
Number of live births	0,251	1,10	0,93	1,30
Number of cesarean	0,928	1,01	0,87	1,17
Clinical history				
Previous Pap test	0,128	1,43	0,90	2,26
Previous HPV vaccine	0,691	1,41	0,26	7,75
Previous lesion on vulva/ vagina	0,302	0,84	0,59	1,17
Previous STI	0,563	1,13	0,75	1,68
Previous cervical lesion	0,908	1,02	0,76	1,36
Sexual behavior				
Contraceptive use	0,805	0,95	0,62	1,45
Hormonal contraceptive use	0,009	1,42	1,09	1,85
Active sexual life	0,945	0,99	0,67	1,45
Lifetime number of sexual partners	0,651	1,00	0,99	1,02
Number of eventual sexual partners	0,910	1,00	0,98	1,03
Number of unfaithful partners	0,127	1,05	0,99	1,12
Number of sexual partners in preceding year	0,315	1,08	0,93	1,26
Number of sexual partners practicing oral sex	0,946	1,00	0,96	1,04
Passive oral sex	0,202	1,23	0,90	1,68
Active oral sex	0,804	0,96	0,73	1,28
Anal sex	0,580	0,93	0,70	1,22
Irregular condom use	0,658	0,94	0,70	1,26
Habits				
Tabacco smoking	0,065	1,33	0,98	1,79
Alcohol	0,011	1,37	1,07	1,74
Drugs	0,525	1,28	0,60	2,70

Table 5: Multiple logistic regression adjusted for the *Chlamydia trachomatis* positivity.

Variable	p	OR	IC95%	
Sociodemographic				
Age (years)	0,041	0,97	0,95	1,00
Married/ Living with a partner	0,002	0,50	0,32	0,78
Education	0,735	0,99	0,93	1,05
Pregnancy history				
Age at menarch	0,071	1,11	0,99	1,24
Number of pregnancies	0,849	0,97	0,74	1,29
Number of live births	0,525	1,10	0,82	1,46
Number of cesarean	0,280	0,87	0,67	1,12
Clinical history				
Previous Pap test	0,369	1,41	0,67	2,99
Previous HPV vaccine	0,782	1,38	0,14	13,67
Previous lesion on vulva/ vagina	0,518	1,19	0,71	1,99
Previous STI	0,328	0,70	0,35	1,43
Previous cervical lesion	0,352	1,25	0,78	1,98
Sexual behavior				
Contraceptive use	0,291	1,47	0,72	2,98
Hormonal contraceptive use	0,165	0,74	0,49	1,13
Active sexual life	0,910	0,97	0,54	1,74
Lifetime number of sexual partners	0,632	0,99	0,95	1,03
Number of eventual sexual partners	0,717	1,01	0,96	1,06
Number of unfaithful partners	0,420	1,03	0,95	1,12
Number of sexual partners in preceding year	0,985	1,00	0,79	1,28
Number of sexual partners practicing oral sex	0,475	0,97	0,88	1,06
Passive oral sex	0,921	0,97	0,57	1,66
Active oral sex	0,336	0,77	0,45	1,32
Anal sex	0,977	1,01	0,64	1,58
Irregular condom use	0,176	0,74	0,48	1,15
Habits				
Tabacco smoking	0,505	0,84	0,51	1,40
Alcohol	0,026	1,56	1,05	2,30
Drugs	0,832	0,87	0,24	3,12

Table 6: Risk factors for acquisition of HPV and *Chlamydia trachomatis* co-infection.

Variable	p	OR	IC95%	
Sociodemographic				
Age (years)	0,001	0,94	0,90	0,98
Married/ Living with a partner	0,000	0,29	0,16	0,53
Education	0,689	0,98	0,89	1,08
Pregnancy history				
Age at menarch	0,013	1,21	1,04	1,41
Number of pregnancies	0,669	0,91	0,59	1,41
Number of live births	0,383	1,22	0,78	1,89
Number of cesarean	0,981	1,00	0,69	1,43
Clinical history				
Previous Pap test	0,323	1,60	0,63	4,08
Previous HPV vaccine	0,627	1,94	0,13	28,47
Previous lesion on vulva/ vagina	0,413	1,34	0,66	2,70
Previous STI	0,098	0,36	0,10	1,21
Previous cervical lesion	0,381	1,35	0,69	2,63
Sexual behavior				
Contraceptive use	0,382	0,67	0,27	1,65
Hormonal contraceptive use	0,764	1,10	0,60	2,00
Active sexual life	0,314	1,54	0,66	3,59
Lifetime number of sexual partners	0,787	1,00	0,98	1,03
Number of eventual sexual partners	0,636	0,99	0,93	1,04
Number of unfaithful partners	0,686	0,97	0,82	1,14
Number of sexual partners in preceding year	0,283	1,14	0,90	1,45
Number of sexual partners practicing oral sex	0,688	0,97	0,85	1,11
Passive oral sex	0,521	1,26	0,62	2,59
Active oral sex	0,293	0,68	0,33	1,40
Anal sex	0,303	0,72	0,38	1,35
Irregular condom use	0,348	0,75	0,42	1,36
Habits				
Tabacco smoking	0,771	0,90	0,45	1,80
Alcohol	0,129	1,51	0,89	2,57
Drugs	0,400	1,79	0,46	7,01

5. Discussion

In this study we demonstrated a high prevalence of HPV infection in our population (33.52%) and this prevalence rate is higher than that determined by others studies conducted in Brazil^{13, 14, 15, 16}. Regarding this finding, we have to consider that the median age of our cohort was 29 years-old (15-50) among HPV-positive women, and several studies have demonstrated higher rates of HPV infection in younger women^{17, 18, 19} suggesting that the prevalence of HPV infection decreases with the increasing age^{1, 14, 20}.

The overall prevalence of multiple HPV genotype infection was 42.40%. Among these women, 62.66% were infected with at least one high-risk HPV genotype (data not shown). The prevalence of multiple-type infection observed in our cohort was higher than previously reported by other epidemiological studies^{13, 21, 22, 23}. The most prevalent HPV genotype in multiple-type infection was HPV-16, present in 24.77% of the samples.

According to several epidemiological studies, there are certain well-known risk factors for HPV infection^{24, 25, 26, 27}. Most of these are related to sexual behaviors, which determine exposure to HPV. In our cohort, we didn't observe an increased risk of HPV and CT coinfection in women who had more than 1 partner in the year preceding evaluation as described in other studies^{25, 26}. However, accurate information is difficult to obtain.

The consumption of alcohol and tobacco are frequently associated with several diseases, including cancers. But according to some studies, tobacco smoking is not related to the acquisition of HPV infection^{1, 3, 23}. In our study, we observed a positive association between women who frequently consume alcohol and the acquisition of HPV (OR=1.37; 95%CI=1.07-1.74) and CT (OR=1.56; 95%CI=1.058-2.30) simple infections. This association can be explained by high-risk behaviors.

Our results revealed that BV detected in almost 30% of our population is in agreement with other Brazilian studies^{28, 29}. Although some studies suggest that BV is associated with HPV infection^{30, 31}, we observed that the majority of HPV-positive women presented normal flora. We also analyzed *T. vaginalis* infection, but the prevalence of this protozoon is very low in our population. The prevalence of *N. gonorrhoeae* in our population is also very small, only 0.62% (10/1590) cases were detected in the cohort. In our study, the overall prevalence of *C. trachomatis* was 8.30% at enrollment. Among HPV-positive women, 13.13% of them were also positive for *C. trachomatis*. The prevalence determined herein is low compared with other studies conducted in Brazil^{32, 33}. However, we must consider that these authors only investigated adolescents. Regarding risk factors, women who reported frequent alcohol consumption also showed increased risk for this infection (OR=1.56; 95%CI=1.05–2.30). In

contrast, a protective effect against CT infection was observed among women who reported being married or living with a long-term partner (OR=0.50; 95%CI=0.32-0.78).

Regarding HPV and *C. trachomatis* coinfection, increase in age at menarch showed a risk factor for coinfection (OR=1.21; 95%CI=1.04-1.41). Again, a protective effect against HPV and *C. trachomatis* coinfection was observed in women who reported being married or living with a long-term partner (OR=0.29; 95%CI=0.16-0.53) (Table 6).

In conclusion, we described the prevalence of infections due to HPV and CT in a population in southeastern Brazil. According to our results, the overall coinfection rate of HPV and *C. trachomatis* is high, suggesting that screening programs to detect these infections could be helpful in establishing prevention strategies in our population. This epidemiological study should be used to provide additional information concerning high-risk behaviors in this population and orient people so that they avoid such behaviors.

6. References

1. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine* 2006; 1:S1-15.
2. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* 2006; 118:3030-44.
3. Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 2005; 1:S16-24.
4. Manavi K. A review on infection with *Chlamydia trachomatis*. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2006; 20:941-51.
5. Anttila T, Saikku P, Koskela P, et al. Serotypes of *Chlamydia trachomatis* and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. *JAMA* 2001;285:47-51.
6. Wallin KL, Wiklund F, Luostarinen T, et al. A population-based prospective study of *Chlamydia trachomatis* infection and cervical carcinoma. *Int J Cancer* 2002;101:371-4.
7. Rasmussen SJ, Eckmann L, Quayle AJ, et al. Secretion of proinflammatory cytokines by epithelial cells in response to *Chlamydia* infection suggests a central role for epithelial cells in chlamydial pathogenesis. *J Clin Invest* 1997; 99:77-87.
8. Silins I, Ryd W, Strand A, et al. *Chlamydia trachomatis* infection and persistence of human papillomavirus. *Int J Cancer* 2005; 116:110-5.
9. Tavares MC, de Macêdo JL, de Lima Júnior SF, et al. *Chlamydia trachomatis* infection and human papillomavirus in women with cervical neoplasia in Pernambuco-Brazil. *Mol Biol Rep Ano?*; 41:865-74.
10. Mendoza L, Mongelos P, Paez M, et al. Human papillomavirus and other genital infections in indigenous women from Paraguay: a cross-sectional analytical study. *BMC Infect Dis* 2013;13:531.

11. Bhatla N, Puri K, Joseph E, et al. Association of *Chlamydia trachomatis* infection with human papillomavirus (HPV) & cervical intraepithelial neoplasia - a pilot study. *Indian J Med Res* 2013;137:533-9.
12. Nugent, RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* 1991; 29:297-301.
13. Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, et al. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. *J Infect Dis* 1999;180:1415-23.
14. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007;7:453-9.
15. Rosa MI, Fachel JM, Rosa DD, et al. Persistence and clearance of human papillomavirus infection: a prospective cohort study. *Am J Obstet Gynecol* 2008;199:617.e1-7.
16. Miranda PM, Pitol BC, Moran MS, et al. Human papillomavirus infection in Brazilian women with normal cervical cytology. *Genet Mol Res* 2012; 11:1752-61.
17. Howell-Jones R, de Silva N, Akpan M, et al. Prevalence of human papillomavirus (HPV) infections in sexually active adolescents and young women in England, prior to widespread HPV immunization. *Vaccine* 2012;30:3867-75.
18. Mollers M, Boot Hein J, Vriend Henrike J, et al. Prevalence, incidence and persistence of genital HPV infections in a large cohort of sexually active young women in the Netherlands. *Vaccine* 2013;31:394-401.
19. Smith MA, Tellier PP, Roger M, et al. Determinants of Human Papillomavirus coinfections among Montreal University Students: The Influence of Behavioral and Biologic Factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014; 23:812-22.
20. Trottier H, Ferreira S, Thomann P, et al. Human papillomavirus infection and reinfection in adult women: the role of sexual activity and natural immunity. *Cancer Res* 2010;70:8569-77.

21. Giuliano AR, Harris R, Sedjo RL, et al. Incidence, prevalence, and clearance of type-specific human papillomavirus infections: The Young Women's Health Study. *J Infect Dis* 2002;186:462-9.
22. Molano M, Posso H, Weiderpass E, et al. HPV Study Group HPV Study. Prevalence and determinants of HPV infection among Colombian women with normal cytology. *Br J Cancer* 2002;87:324-33.
23. Goodman MT, Shvetsov YB, McDuffie K, et al. Prevalence, acquisition, and clearance of cervical human papillomavirus infection among women with normal cytology: Hawaii Human Papillomavirus Cohort Study. *Cancer Res* 2008; 68:8813-24.
24. Herrero R, Castle PE, Schiffman M, et al. Epidemiologic profile of type-specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis* 2005;191:1796-807.
25. Winer RL, Lee SK, Hughes JP, et al. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol* 2003;157:218-26.
26. Vinodhini K, Shanmughapriya S, Das BC, Natarajaseenivasan K. Prevalence and risk factors of HPV infection among women from various provinces of the world. *Arch Gynecol Obstet* 2012;285:771-7.
27. Baudu A, Pr  tet JL, Riethmuller D, et al. Prevalence and risk factors of human papillomavirus infection types 16/18/45 in a cohort of French females aged 15-23 years. *J Epidemiol Glob Health* 2014;4:35-43.
28. Mascarenhas RE, Machado MS, Costa e Silva BF, et al. Prevalence and risk factors for bacterial vaginosis and other vulvovaginitis in a population of sexually active adolescents from Salvador, Bahia, Brazil. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2012;2012:378640.
29. Marconi C, Donders GG, Martin LF, et al. Chlamydial infection in a high risk population: association with vaginal flora patterns. *Arch Gynecol Obstet* 2012; 285:1013-8.
30. Gillet E, Meys JF, Verstraelen H, et al. Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: a meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2011;11:10.
31. Guo YL, You K, Qiao J, et al. Bacterial vaginosis is conducive to the persistence of HPV infection. *Int J STD AIDS* 2012;23:581-4.

32. Araújo RS, Guimarães EM, Alves MF, et al. Prevalence and risk factors for *Chlamydia trachomatis* infection in adolescent females and young women in central Brazil. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006;25:397-400.
33. Guimarães EM, Guimarães MD, Vieira MA, et al. Lack of utility of risk score and gynecological examination for screening for sexually transmitted infections in sexually active adolescents. *BMC Med* 2009; 7:8.

Capítulo III
Conclusão

Conclusão

Considerando nossa população de estudo e o tamanho amostral incluído, bem como as metodologias utilizadas, podemos concluir que as prevalências de HPV, *C. trachomatis* e de coinfecção são elevadas. Nesse sentido, a implementação de programas educacionais e de detecção dessas DSTs na Rede Pública de Saúde poderiam ser úteis no estabelecimento de estratégias de prevenção e tratamento em nossa população. Este estudo epidemiológico deve ser usado para fornecer informações adicionais sobre comportamentos de risco e orientar as pessoas para que evitem tais comportamentos.

Anexos

QUESTIONÁRIO – Projeto HPV/*Chlamydia trachomatis*

Data da entrevista: dia____ mês____ ano____ Horário:_____

Registro UBS:_____

Registro número no estudo:_____

Contatos telefônicos da entrevistada:_____

Esta é a nossa primeira entrevista. As informações aqui obtidas são muito importantes para o nosso estudo. Gostaríamos que a senhora se sentisse a vontade para responder as nossas perguntas, não se preocupando com o que diz, porém sendo sincera. Devo informá-la que todas as respostas jamais serão reveladas a alguém. Agradecemos sua compreensão e colaboração com nossa pesquisa.

1. Qual o seu nome? _____

2. Qual a sua idade? _____ (Data de nascimento: dia____ mês____ ano____)

3. Qual a cor da sua pele?

[1] branca

[2] negra

[3] índia ou descendente

[4] mulata ou parda

[5] amarela

4. Qual seu estado civil?

[1] casada

[2] solteira

[3] vive maritalmente

[4] separada

[5] viúva

5. Qual sua ocupação? _____

6. Quantos anos de aprovação escolar a senhora têm? _____

7. Na sua família, quantas pessoas contribuem para a renda mensal? _____

8. Qual a sua renda familiar? _____

(Salário mínimo vigente – R\$622,00 em Setembro de 2012)

9. Quantas pessoas vivem com esta renda? _____

10. Em que local a senhora mora?

[1] zona urbana/cidade [2] zona rural

11. Idade da primeira menstruação? _____

12. Quando foi a última menstruação? _____

13. Quais os métodos que utiliza para evitar gravidez?

[1] pílula anticoncepcional [2] D.I.U. [3] camisinha

[4] laqueadura [5] vasectomia [6] diafragma

[7] injeção hormonal [8] coito interrompido/ tabelinha [9] outro/não sabe

14. Se USA contraceptivo hormonal, há quanto tempo? _____

15. Se USOU contraceptivo hormonal, por quanto tempo? _____

16. História obstétrica: G____ P____ A____ C____

Quantas gestações a senhora teve? Quantos partos? Naturais ou cesáreas? Aborto?

17. Se teve algum aborto, quantos foram ESPONTANEOS _____ e quantos foram PROVOCADOS _____

18. No último ano, quantas vezes sentiu coceira na região genital? _____

[1] nenhuma [2] algumas vezes [3] muitas vezes

19. No último ano, quantas vezes sentiu dor/ardor na região genital? _____

[1] nenhuma [2] algumas vezes [3] muitas vezes

20. No último ano, quantas vezes teve corrimento vaginal? _____

[1] nenhuma [2] algumas vezes [3] muitas vezes

21. Na última semana, teve corrimento, coceira ou ardor na região genital?

[1] sim [2] não

22. A senhora fez uso de algum produto ginecológico na ultima semana?

[1] sim [2] não

23. Já fez exame de prevenção de câncer de colo do útero, o chamado Papanicolau?

[1] sim [2] não

24. Se sim, quantas vezes? _____

25. Se sim, quando foi a última vez? _____

[1] há menos de 1 ano [2] entre 1- 3 anos

[3] há mais de 3 anos [4] não se lembra

26. A senhora já teve algum exame de Papanicolau alterado?

[1] sim [2] não

27. Se sim, a senhora fez algum procedimento após este resultado?

[1] biópsia [2] cirurgia de alta frequência (CAF)

[3] conização [4] outro: _____

28. Já tomou a vacina contra HPV (vírus que causa o Câncer de Colo do Útero)?

[1] sim [2] não

29. Já teve alguma vez ferida na vagina ou vulva?

[1] sim [2] não

30. Alguma vez, soube por algum médico que tinha uma doença venérea ou sexualmente transmissível?

[1] sim [2] não

31. Se sim, qual?

[1] gonorréia [2] cancro [3] condiloma ou crista de galo

[4] sífilis [5] trichomoníase [6] herpes

[7] clamídia

32. Já teve alguma ferida no colo do útero que tenha sido diagnosticada por algum médico?

[1] sim

[2] não

33. Se sim, recebeu tratamento para esta ferida?

[1] Não precisou

[2] Não, ainda (está em seguimento)

[3] Não, recusou

[4] Sim, cauterização

[5] Sim, não sabe o tratamento

[6] Não sabe se foi tratada

Agora gostaria de lhe fazer algumas perguntas sobre sua vida íntima, apesar de saber que é um assunto pessoal, gostaria de enfatizar que estas informações serão muito úteis para nossa pesquisa. A senhora deve saber que todas as respostas e informações aqui obtidas serão mantidas em total segredo, e nunca serão reveladas. Caso a senhora não queira responder qualquer pergunta, sinta-se a vontade para não responde-la.

34. Com que idade teve a primeira relação sexual? _____

35. A senhora tem vida sexual ativa?

[1] sim

[2] não

36. Na sua vida, a senhora manteve/mantém relações sexuais com:

[1] somente com homens

[2] com homens e mulheres

[3] somente com

mulheres

37. Durante toda a vida, com quantos parceiros manteve relações sexuais? _____

38. Durante toda sua vida, a senhora teve parceiros eventuais? Quantos? _____

39. Que a senhora saiba, quantos parceiros, dentre os fixos, NÃO foram fiéis, ou seja, quantos deles tiveram relações com outras mulheres? _____

40. No ultimo ano, com quantos parceiros manteve relações sexuais? _____

41. Com que frequência tem relações sexuais? _____

42. O(s) seu(s) parceiro(s) tem o habito de praticar sexo oral em você?

[1] sim [2] não

43. A senhora pratica sexo oral no(s) seu(s) parceiro(s)?

[1] sim [2] não

44. Com quantos parceiros já praticou sexo oral? _____

45. A senhora pratica sexo ANAL?

[1] sim [2] não

46. Costuma lavar seus genitais ANTES de ter relações sexuais?

[1] sim [2] não

47. Costuma lavar seus genitais DEPOIS de ter relações sexuais?

[1] sim [2] não

48. Nos últimos meses se lembra de ter usado algum sistema que force água ou líquidos para o interior da vagina, tais como duchas ou bidês?

[1] sim, sempre [2] sim, com frequência [4] sim, de vez em quando [5] nunca

49. A senhora usa preservativos durante a relação sexual?

[1] sim [2] não

50. Se sim, com que frequência?

[1] sempre, em todas as relações [2] somente com o(s) parceiro(s) eventual(s)

[3] somente com o(s) parceiro(s) fixo(s) [4] esporadicamente

51. A senhora fuma?

[1] sim [2] não

52. Se sim, quantos cigarros fuma em media por dia? _____

53. Se fumou, por quanto tempo? _____

54. A senhora consome bebida alcoólica?

[1] sim

[2] não

55. Se sim, qual a frequência que as consome?

[1] diariamente

[2] semanalmente

[3] mensalmente

[4] raramente

56. Se sim, qual a quantidade? _____

57. A senhora utiliza alguma substância?

[1] sim

[2] não

58. Se sim, qual?

[1] maconha

[2] cocaína

[3] crack

[4] cola

[5] outra: _____

Nome da entrevistadora: _____

Unidade de Saúde: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Título da pesquisa: *"Avaliação da influência da cervicite por Chlamydia trachomatis na persistência da infecção pelo Papilomavirus Humano (HPV) e no perfil de citocinas produzidas na secreção cervical de mulheres imunocompetentes"*

Nome da Instituição: Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

Nome dos Pesquisadores: Aline do Nascimento Bolpetti, Gabriel Vitor da Silva Pinto e Profa. Dra. Marcia Guimarães da Silva (Coordenadora)

A senhora está sendo convidada a participar de um estudo no qual será pesquisada a influência da infecção no trato genital causada pela bactéria *Chlamydia trachomatis* como co-fator para o risco de infecção persistente pelo Papilomavirus Humano (HPV). Assim como a infecção pelo vírus HPV, a infecção por *C. trachomatis* é uma das doenças transmitidas pelo ato sexual mais comum em todo o mundo. Trata-se de um estudo no qual as mulheres incluídas serão acompanhadas por um período de 24 meses (2 anos). Inicialmente, será realizado exame ginecológico e coleta de conteúdo vaginal para análise do padrão de bactérias encontradas no trato genital. A seguir a secreção cervical será coletada com uma escova similar a usada no exame de Papanicolaou, para a pesquisa do HPV e *C. trachomatis*. Uma vez identificada a presença do HPV, a sra será convidada a participar do estudo, e para isto será necessário que retorne a Unidade Básica de Saúde a cada 4 meses para nova coleta de secreção cervical. Desta forma, a coleta de material vaginal será feita 7 vezes durante o período de 2 anos do estudo, e nova coleta será feita somente no caso da amostra não se apresentar adequada. O presente estudo irá contribuir para um melhor entendimento do papel da *C. trachomatis* como co-fator para o risco de infecção persistente pelo HPV, sendo este vírus o principal fator de risco para o desenvolvimento do câncer de colo do útero.

A Sra terá acesso a todas as informações que julgar necessárias para melhor decidir sobre a sua participação ou não no estudo.

1. A participação é voluntária podendo se retirar do estudo a qualquer momento.
2. Para esta pesquisa serão cedidas regularmente amostras de secreção cervical, que serão obtidas conforme a necessidade para os experimentos propostos. Durante a coleta haverá um pequeno desconforto local igual ao de um exame ginecológico de rotina.
3. A sra terá garantido o sigilo de sua identidade e privacidade com relação aos resultados obtidos a partir de suas amostras biológicas.
4. Ao ser selecionada para participar do estudo e ter que retornar a Unidade Básica de Saúde a cada 4 meses, a sra receberá valor do transporte como bonificação.

As informações acima devem estar claras e o propósito do estudo entendido. Por esse motivo, a sra autoriza o pesquisador abaixo indicado e sua equipe de pesquisa a coletar e processar as amostras biológicas, bem como a levantar as informações que julgar relevantes.

Ao assinar esse termo, a sra estará fornecendo seu consentimento livre e esclarecido para participar do estudo. A sra receberá uma cópia deste documento assinado e datado. Ao assinar este termo, a sra não estará

desistindo de nenhum dos seus direitos previstos em lei. Por fim, a sra poderá a qualquer momento fazer as perguntas que desejar sobre o estudo, bastando entrar em contato com as pessoas indicadas.

Eu, _____, ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, autorizo o pesquisador e sua equipe de pesquisa a coletar e processar minhas amostras biológicas, assim como a levantar as informações que julgar relevantes para o estudo.

Eu, abaixo assinado, expliquei todos os detalhes relevantes deste estudo para a voluntária identificada acima e forneci a ela uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido datado e assinado.

Aline Bolpetti

Nome legível do pesquisador, assinatura e data

E-mail: abolpetti@gmail.com

Tel.: (14) 97643998

Endereço: Departamento de Patologia

Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP.

Distrito de Rubião Jr s/n

Em caso de dúvidas, a qualquer momento contatar uma das pessoas abaixo:

Aline do Nascimento Bolpetti (abolpetti@gmail.com) – Tel.: (14) 97643998

Profa. Dra. Marcia Guimaraes da Silva (mgsilva@fmb.unesp.br) – Tel.: (14) 3811-6238, (14)97412496